

高リン酸食投与時のラットの系統差が鉄、銅および亜鉛出納に及ぼす影響

前田宜昭

Effect of Rat Strain Difference on Iron, Copper and Zinc Balance in the High Phosphorus Diet

YOSHIAKI MAEDA

The objective of this experiment was to determine iron(Fe), copper(Cu) and zinc(Zn) balance resulted from dietary phosphorus(P) supplementation in the Wistar, the Fischer, the Sprague-Dawley and the Donryu rat. We studied two groups(n=6 each) of young male rats of all strains, one receiving a normal-P diet(0.5%P, as potassium tripoly-phosphate) and the other a high-P diet(1.5%P), over a 3-week period. Dietary P supplementations were significantly attenuated the rise in the amounts of food intake and weight gain. In some strains, Fe and Zn absorption(%) were significantly lower in the rats fed the high-P diet than in controls, and urinary Fe, Cu and Zn excretion(%) were significantly produced with P supplementation.

ミネラル代謝に関する研究は広範囲にわたり、多くの研究が行われている。特にカルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)、ナトリウム(Na)、鉄(Fe)などは、成人病や各種疾患との関連や加齢との関係から注目され、盛んに研究がなされている。

我が国のミネラル摂取状況は、Caの摂取不足が報告されている¹⁾。Caと関係の深いリン(P)摂取量は、五島ら²⁾によると1970年代で1,200~1,300mg/日程度という数値を示している。しかし、食品添加物として多くの加工食品には各種リン酸塩が広く用いられている。この様な現状ではPの摂取量が過剰傾向にあるものと考えられる。また、岡崎ら³⁾が小児児童を対象にした調査報告でも食事加工食品が多く摂り入れられるとCaとPの摂取バラ

ンスがくずれ、Pの摂取過多を引き起こすことを指摘している。

また一方、ミネラル栄養に関する基礎研究の多くは、被験動物としてラットを用いたものが少なくない。実験計画での差異、週齢などは比較的検討されているが、被験動物の系統に関しては記載されるにとどめられている。

我々は、Wistar系ラットを用いて成長およびCa代謝に対しての高リン食投与の影響についてはすでに報告⁴⁻⁶⁾しているが、他の系統を用いたときの再現性については、検討を加えるに至らなかった。

そこで各種のラットを用いて高P食を投与したとき、系統差がミネラル出納、今回は微量元素である鉄、銅および亜鉛出納に影響を及ぼすのか否かを検討した。

Key Words: phosphorus, strain difference, iron, copper, zinc, balance

実験方法

1. 実験動物と飼料組成

実験動物として生後3週齢の4系統Wistar系、Fischer系、Sprague-Dawley系およびDonryu系の雄ラット、各12匹を日本クレア(株)より購入した。1週間の標準食で予備飼育後、各系統ごとに0.5% P食群(以下対照群)と1.5% P食群(以下高P食群)に分け、合計8群(48匹)を3週間飼育した。

表 1 飼料組成

飼 料	正常リン食	高リン食
食事中リン濃度	0.5%	1.5%
ミルクカゼイン	18.0	18.0
コーンスターチ	71.5	66.2
コーン油	5.0	5.0
ミネラル混合 ¹⁾	2.6	2.6
トリポリリン酸カリウム	1.9	7.2
ビタミン混合 ²⁾	1.0	1.0
	100.0	100.0

1) ハーパー塩混合、2) パンビタン粉末

飼料は、表1に示すようにカゼイン18%、コーン油5%、ミネラル混合(ハーバー塩)2.6%、ビタミン混合(武田パンビタン粉末)1%にリン酸塩としてトリポリリン酸カリウム($K_5P_3O_{10}$)を用い、残りをコーンスターチで100%になるように調整した。

2. 飼育方法と出納試験

飼育は、室温21~23℃、湿度50~55%、明暗が12時間サイクルに照明制御された動物室で行った。飲料水は蒸留水を与え、飼料とともに自由に摂取させた。体重および飼料摂取量は毎日測定した。なお、実験動物の管理はThe Guide for the Care and Use of Laboratory⁷⁾に基づいて行った。

出納期間は、動物を代謝ゲージに移し予備出納を2日間行った後、飼育終了前5日間にわたり糞尿を分離採取した。尿は105℃で乾燥し、電気炉で550℃で灰化した。糞は体毛を除去し、105℃で乾燥し重量を求めた後、ミルで粉碎し、尿と同様の操作で灰化した。

3. ミネラルの分析

飼料、糞、尿中のFe、銅(Cu)ならびに亜鉛(Zn)濃度は、和光純薬工業(株)社製の標準液を用いて原子吸光分析を行った。

4. 出納計算法ならびに統計処理

摂取量から糞中排泄量を差し引いて、見掛けの吸収量を求めた。体内保留量は、その吸収量から尿中排泄量を差し引き算出した。また、吸収率、尿中排泄率および体内保留率は、摂取量当たりの百分率で算出した。

系統差あるいは食事リン濃度との関係は、一元または二元配置分散分析で統計処理した。また各群間の差については、シェッフェの方法で多重比較を行った。

実験結果

1. 飼育記録

表2に飼育記録を示した。4系統すべてのラットの飼料摂取量は、対照群に比べて高リン食群が低値を示し、終体重も低値を示した。また飼料効率が高リン食投与により有意に低値を示したが、Fischer系ラットには有意な差がみられなかった。

2. 鉄出納

表3にFe出納を示した。Wistar系、Sprague-Dawley系およびDonryu系ラットの吸収量および体内保留量は、対照群に比べて高リン食群が有意に低値を示した。また、その3系統ラットの吸収率は、高リン食投与により有意に低値を示した。さらにDonryu系

ラットの尿中排泄率が高リン食投与により有意に低値を示した。

3. 銅出納

表 4 に Cu 出納を示した。4 系統すべてのラッ

トの吸収量および体内保留量は、対照群に比べて高リン食群が有意に低値を示した。Fischer 系ラット以外の 3 系統のラットの尿中排泄率は、高リン食投与により有意に高値を示した。

表 2 飼育記録

系統	食事中リン濃度	初体重	終体重	体重増加量	飼料摂取量	飼料効率
Wistar	0.5%	88.9±1.4 ¹⁾	220.5±5.1	143.6±3.4	315.0±9.4	41.4±0.5
	1.5%	84.7±1.1	126.2±4.3 ^{※2)}	17.9±2.6 [*]	173.6±8.0 [*]	11.8±1.5 [*]
Fischer	0.5%	83.5±1.4	168.2±5.1	84.7±4.5	260.5±6.6	32.5±0.8
	1.5%	85.0±1.4	138.4±6.3 [*]	53.4±5.5 [*]	212.5±8.9 [*]	24.7±1.7
Sprague-Dawley	0.5%	89.3±1.3	268.1±4.1	178.7±3.8	437.5±11.0	41.0±1.5
	1.5%	89.2±0.8	123.9±5.6 [*]	34.7±5.6 [*]	180.7±7.6 [*]	18.7±2.3 [*]
Donryu	0.5%	80.9±0.5	223.6±3.7	131.5±4.5	346.1±4.7	41.7±0.3
	1.5%	80.1±0.9	97.1±3.1 [*]	41.5±3.9 [*]	149.3±4.9 [*]	23.5±1.2 [*]
(1)系統差 ³⁾		p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
(2)食事中リン濃度		n.s. ⁴⁾	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
(1)×(2)		n.s.	p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01

注. 1) 平均値±標準誤差、2) ※は対照群に対して有意差あり、3) 二元配置分散分析、4) n.s.は有意差なし

表 3 鉄出納

系統	食事中リン濃度	摂取量	糞中排泄量	吸収量	尿中排泄量	体内保留量
Wistar	0.5%	7.13±0.28 ¹⁾	2.83±0.11 (39.8±0.8) ²⁾	4.30±0.19 (60.2±0.8)	0.15±0.01 (2.1±0.2)	4.15±0.18 (58.1±0.7)
	1.5%	4.22±0.22 ^{※3)}	2.46±0.21 (58.1±3.3)	1.76±0.14 [*] (41.9±3.3 [*])	0.30±0.03 (7.4±0.9)	1.46±0.14 [*] (34.5±3.2)
Fischer	0.5%	5.92±0.31	3.14±0.17 (54.1±4.8)	2.78±0.36 (45.9±4.8)	0.17±0.02 (2.8±0.3)	2.61±0.36 (43.1±4.9)
	1.5%	5.13±0.21	2.09±0.11 (40.8±2.3)	3.07±0.19 (59.2±2.3)	0.20±0.07 (3.8±1.5)	2.87±0.21 (55.4±2.3)
Sprague-Dawley	0.5%	9.44±0.56	3.91±0.11 (41.9±1.8)	5.53±0.46 (58.1±1.8)	0.26±0.04 (2.6±0.3)	5.27±0.43 (55.4±1.8)
	1.5%	3.90±0.26 [*]	2.28±0.18 [*] (59.3±4.1)	1.62±0.22 [*] (40.7±4.1 [*])	0.34±0.04 (8.7±1.0)	1.28±0.22 [*] (32.0±4.6)
Donryu	0.5%	7.68±0.11	2.55±0.13 (33.2±1.4)	5.13±0.09 (66.8±1.4)	0.20±0.03 (2.6±0.4)	4.93±0.07 (64.2±1.2)
	1.5%	3.13±0.13 [*]	1.98±0.45 (62.1±12.4)	1.14±0.38 [*] (37.9±12.4 [*])	0.30±0.02 (9.7±0.7 [*])	0.84±0.36 [*] (28.1±11.9)
(1)系統差 ⁴⁾		p<0.01	p<0.01 (n.s. ⁵⁾)	n.s. (n.s.)	n.s. (p<0.01)	n.s. (n.s.)
(2)食事中リン濃度		p<0.01	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)
(1)×(2)		p<0.01	p<0.05 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	n.s. (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)

注. 1) 平均値±標準誤差、2) ()は飼料摂取量当たりの百分率、3) ※は対照群に対して有意差あり、4) 二元配置分散分析、5) n.s.は有意差なし

表 4 銅出納

系統	食事中 リン濃度	摂取量	糞中排泄量	吸収量	尿中排泄量	体内保留量
Wistar	0.5%	1.92±0.81 ¹⁾	1.15±0.04 (60.1±1.1) ²⁾	0.77±0.05 (39.9±1.1)	0.04±0.01 (1.9±0.2)	0.73±0.04 (38.0±1.0)
	1.5%	0.92±0.04 ^{※3)}	0.59±0.02 [※] (65.5±4.6)	0.33±0.05 [※] (34.5±4.6)	0.05±0.01 (5.1±0.5 [※])	0.28±0.05 [※] (29.4±4.8)
Fischer	0.5%	1.69±0.03	0.98±0.08 (58.0±4.8)	0.71±0.09 (42.0±4.8)	0.02±0.01 (1.2±0.1)	0.69±0.09 (40.8±4.8)
	1.5%	1.12±0.04 [※]	0.83±0.04 (74.1±3.3)	0.30±0.04 [※] (25.9±3.3)	0.03±0.01 (2.7±0.4)	0.26±0.04 [※] (23.2±3.4)
Sprague-Dawley	0.5%	2.54±0.15	1.53±0.03 (61.2±3.5)	1.01±0.13 (38.8±3.5)	0.03±0.01 (1.3±0.1)	0.98±0.13 (37.5±3.4)
	1.5%	0.85±0.05 [※]	0.60±0.07 [※] (70.1±5.0)	0.25±0.04 [※] (29.9±5.0)	0.03±0.01 (3.2±0.3 [※])	0.22±0.04 [※] (26.7±4.9)
Donryu	0.5%	2.07±0.03	1.22±0.08 (59.0±3.6)	0.85±0.07 (41.0±3.6)	0.02±0.01 (1.1±0.1)	0.82±0.07 (39.9±3.6)
	1.5%	0.68±0.02 [※]	0.48±0.03 [※] (72.0±5.3)	0.20±0.04 [※] (28.0±5.3)	0.03±0.01 (4.4±0.2 [※])	0.17±0.04 [※] (23.6±5.1)
(1)系統差 ⁴⁾		p<0.01	p<0.01 (n.s. ⁵⁾)	n.s. (n.s.)	p<0.01 (p<0.01)	n.s. (n.s.)
(2)食事中リン濃度		p<0.01	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	n.s. (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)
(1)×(2)		p<0.01	p<0.05 (n.s.)	n.s. (n.s.)	n.s. (p<0.01)	n.s. (n.s.)

注.1) 平均値±標準誤差、2) ()は飼料摂取量当たりの百分率、3) ※は対照群に対して有意差あり、4) 二元配置分散分析、5) n.s.は有意差なし

表 5 亜鉛出納

系統	食事中 リン濃度	摂取量	糞中排泄量	吸収量	尿中排泄量	体内保留量
Wistar	0.5%	1.94±0.07 ¹⁾	0.51±0.01 (26.6±1.4) ²⁾	1.43±0.08 (73.3±1.4)	0.027±0.002 (1.3±0.1)	1.40±0.08 (71.9±1.5)
	1.5%	0.93±0.04 ^{※3)}	0.22±0.02 [※] (24.1±3.1)	0.71±0.06 [※] (75.9±3.1)	0.033±0.003 (3.4±0.3)	0.68±0.06 [※] (72.4±3.3)
Fischer	0.5%	1.71±0.02	0.52±0.04 (30.8±2.3)	1.18±0.04 (69.2±2.3)	0.015±0.002 (0.9±0.1)	1.16±0.04 (68.2±2.4)
	1.5%	1.14±0.04 [※]	0.30±0.01 [※] (26.1±1.4)	0.84±0.04 (73.8±1.4)	0.040±0.005 [※] (3.5±0.4 [※])	0.80±0.04 (70.3±1.6)
Sprague-Dawley	0.5%	2.57±0.15	0.68±0.02 (27.1±1.9)	1.89±0.14 (72.8±1.9)	0.032±0.007 (1.2±0.2)	1.85±0.14 (71.6±1.9)
	1.5%	0.86±0.05 [※]	0.27±0.03 [※] (31.3±2.8)	0.59±0.04 [※] (68.6±2.8)	0.022±0.003 (2.7±0.3)	0.57±0.04 [※] (65.9±2.9)
Donryu	0.5%	2.10±0.02	0.51±0.04 (24.5±2.2)	1.57±0.05 (75.4±2.2)	0.013±0.002 (0.7±0.1)	1.56±0.05 (74.7±2.2)
	1.5%	0.69±0.03 [※]	0.36±0.02 (53.4±5.9 [※])	0.32±0.04 [※] (46.5±5.9 [※])	0.027±0.007 (3.9±0.7 [※])	0.30±0.04 [※] (42.6±5.8 [※])
(1)系統差 ⁴⁾		p<0.01	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	n.s. ⁵⁾ (n.s.)	p<0.01 (p<0.01)
(2)食事中リン濃度		p<0.01	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)
(1)×(2)		p<0.01	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (p<0.01)	p<0.01 (n.s.)	p<0.01 (p<0.01)

注.1) 平均値±標準誤差、2) ()は飼料摂取量当たりの百分率、3) ※は対照群に対して有意差あり、4) 二元配置分散分析、5) n.s.は有意差なし

4. 亜鉛出納

表5に示した。Fischer系ラット以外の3系統ラットの体内保留量は、対照群に比べて高リン食群が有意に低値を示した。Donryu系ラットは、高リン食投与により糞中、尿中排泄率が有意に高値を示し、吸収率、体内保留率が有意に低値を示した。Fischer系ラットの尿中排泄率は、高リン食投与により有意に高値を示した。

考 察

ミネラル研究には、ラットが被験動物として多く用いられている。また、ラットの系統も多く遺伝的な素因も少しずつ異なっている。特に成長の度合いが異なる特徴を持つ系統がある。

食事中P濃度の変化と微量元素の利用に対する影響は、Hegsted⁹⁾らにより食事中のP濃度を上昇するとFeの利用が低下することを報告している。またMonsen¹⁰⁾は、ヒトに高P食を投与するとヘム鉄の吸収が若干低下することを報告している。また、食事中P量とCu、Zn利用との関係について、H. Spencer¹¹⁾は、ヒトの微量元素の出納試験において食事中P濃度を800mgから1,500mgに増加させるとCu、Znが負の出納になることを報告している。S. M. Snedeker¹²⁾は、成人男子を対象にPの投与量を8,431mgから2,442mgに上げた高P食の投与を試み、CuおよびZnの利用について検討したところ出納ではCuの尿中排泄量の増加を観察した以外は影響がみられないことを報告しており、ヒトでは様々な成績で一定した傾向はみられない。また一方でA. C. Magee¹³⁾が、幼若期のラットを用い、飼料に0.8%のPを添加したところ、Znの摂取量、糞中排泄量および体内保留量の減少、逆に尿中排泄量の増加を観察したと報告している。また、鈴木¹⁴⁾はWistarラットを用い飼料中Pレベルを増加させると、Cu、Znの尿中排泄率が増加したことを報告している。本実験ではFischer系ラット以外の系統で同様の成績が得られた。またFischer系以外の系統ではFe

の吸収率が高P食投与で有意に減少した。

食事中P濃度と飼料摂取量との関係は、Siu⁸⁾が成長期のWistar系ラットを用いて、食事中のP濃度を0.1%から1.8%までの飼料を調製し、14日間の飼料摂取量の変化を観察したところ、食事中P濃度が増加すると飼料摂取量が減少することを報告している。我々の実験成績は、Wistar系のみならずFischer系、Sprague-Dawley系ならびにDonryu系でも飼料摂取量が減少することを観察した。

本実験の高リン食投与における飼料摂取量の減少率は、それぞれの対照群と比べてFischer系が18%、Wistar系が45%、Donryu系が56%、Sprague-Dawley系が59%減少を示している。大型種になるほど顕著に投与P量の影響を受けているのは、要求量の差で生じたと推測できる。幼若期のFischer系ラットは成長割合も緩やかであり、他の系統と比較しても体が小型であるため、要求量も3系統のラットに比べて比較的少なく、この違いが出納結果に反映した一つの原因として考えられる。また高リン食投与の場合に飼料摂取量を合わせるPair-feeding様式の検討は、Sprague-Dawley系のような大型種は、約6割の飼料摂取量が減少するため、制限される対照群が指標として適当であるかは疑問があり、幼若期における食事条件を変化させても飼料摂取量の増減が少ないFischer系ラットのような小型種が適当であると考えられる。

以上の成績から、同一条件下で高リン食投与した各種ラットを比較することで体構成に対する要求量と排泄機構に系統の違いがあることを観察した。このことから排泄に関わる腎臓の発達度の違いを検討するためにも、飼料摂取量を揃えたPair-feedingと自由摂取様式とを比較する必要があると考えた。

要 約

Wistar、Fischer、Sprague-DawleyおよびDonryuの各系ラットを用いて同一条件下で高リン食投与実験を行い、鉄、銅および亜鉛出納に系統差が影響するか検討したところ、

成長割合に反映する飼料摂取量の違いと糞中ならびに尿中への排泄に対して系統差が観察された。

本実験を行うに際し、ご指導下さいました東京農業大学栄養生化学研究室の五島孜郎先生、鈴木和春先生、上原万里子先生及びご協力下さった研究室員の皆様に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 平成 8 年度版国民栄養の現状 厚生省保健医療局健康増進栄養課 第一出版
- 2) 栄養と食糧, **25**, 359-361 (1972)
- 3) 日本栄養・食糧学雑誌, **38**, 167-(1985)
- 4) マグネシウム, **8**, 143-151 (1989)
- 5) マグネシウム, **9**, 191-200 (1990)
- 6) マグネシウム, **10**, 211-221 (1991)
- 7) DHEW Publication No. (NIH) 78-23 (1978)
- 8) J. Nutr., **111**, 708-720 (1981)
- 9) J. Exp. Med., **90**, 147- (1949)
- 10) Am. J. Clin. Nutr., **29**, 1142- (1976)
- 11) Am. J. Clin. Nutr., **32**, 1867-1875 (1979)
- 12) J. Nutr., **112**, 136-143 (1982)
- 13) J. Nutr., **82**, 287-295 (1964)
- 14) マグネシウム, **2**, 31- (1983)